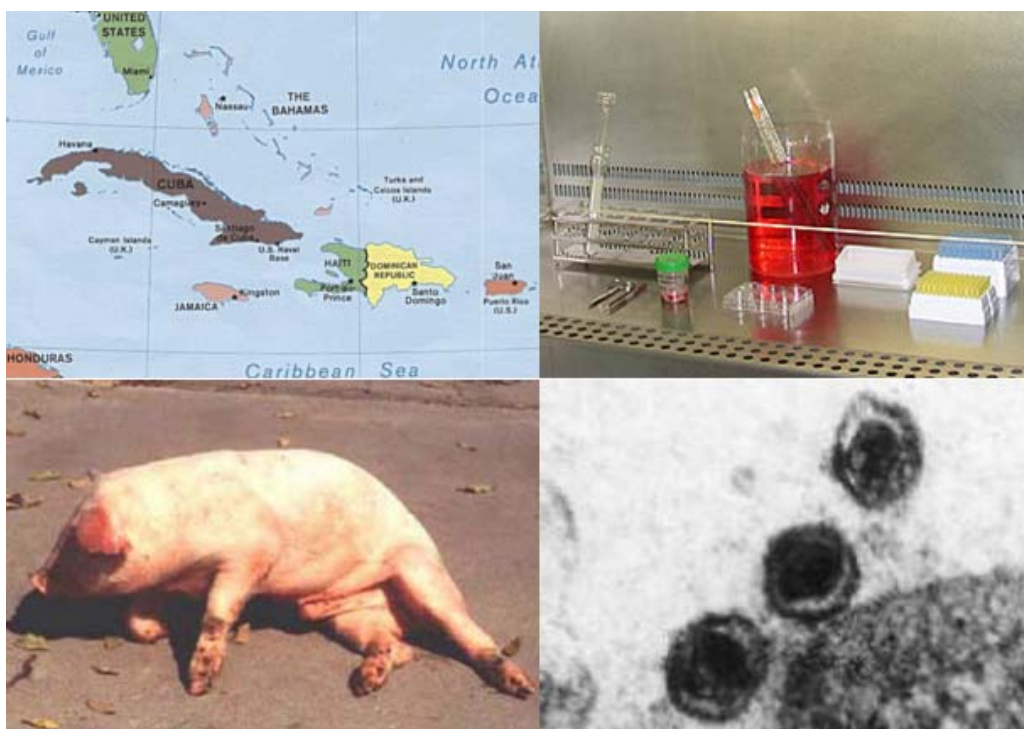


Atelier de restitution de l'essai inter-laboratoire pour le diagnostic de la peste porcine classique dans les Grandes Antilles

CENSA, La Havane, Cuba

Mai 2005



CIRAD
Site de Duclos
Domaine de Duclos,
Prise d'eau 97170 Petit Bourg
GUADELOUPE

Contexte et objectifs

La peste porcine classique (PPC) est une des maladies les plus importantes des porcs domestiques et sauvages et fait partie des maladies listées par l'OIE. Au niveau de la Caraïbe, la PPC est présente à l'état enzootique dans trois pays: Cuba, Haïti et la République Dominicaine. Son contrôle représente un enjeu sanitaire majeur pour la région et bénéficie du soutien de divers bailleurs de fonds (Union Européenne, FAO, United States Department of Agriculture). L'efficacité des systèmes de surveillance et des programmes de contrôle mis en place repose en grande partie sur l'existence d'un outil diagnostique fiable et rapide. Trois laboratoires proposent actuellement un diagnostic de la PPC :

- le Laboratoire Vétérinaire Central (LAVECEN) de Saint-Domingue en République Dominicaine
- le Laboratoire Vétérinaire Central de Tamarinier de Port-au-Prince en Haïti
- et le Centre National de Santé Animale (CENSA) de la Havane à Cuba

Dans le cadre du développement du Réseau Caribéen de Santé Animale (CaribVET), reconnu comme un outil important pour le maintien de la santé animale dans la Caraïbe, il a été proposé de mettre en place un processus de mise sous assurance qualité du diagnostic de la PPC. Ce processus vise à renforcer la qualité des programmes de lutte contre la PPC et à assurer une reconnaissance régionale et internationale aux trois laboratoires vétérinaires réalisant le diagnostic PPC dans la Caraïbe.

Les objectifs spécifiques du projet étaient les suivants:

- Etudier les capacités techniques de diagnostic de la PPC pour les laboratoires de Cuba, Haïti et la République Dominicaine,
- Etudier la possibilité d'échanger des prélèvements à risque entre ces trois laboratoires, ainsi qu'entre ces laboratoires et un ou deux laboratoires internationaux de référence,
- Initier un projet de mise sous assurance qualité du diagnostic de la PPC dans les trois laboratoires des grandes Antilles,
- Favoriser la coopération et l'échange d'informations entre ces laboratoires et les services vétérinaires des Antilles.
- Harmoniser le diagnostic de la PPC dans les laboratoires vétérinaire des grandes Antilles
- Accréditer au niveau international un ou plusieurs des laboratoires vétérinaires des grandes Antilles pour le diagnostic de la PPC.

Déroulement des activités

Le séminaire international de santé animale (SISA) organisé par le CENSA à La Havane du 24 au 27 septembre 2003 a été l'occasion d'organiser un atelier présentant aux différents partenaires scientifiques le projet d'échanges de prélèvements pour la mise sous assurance qualité du diagnostic de la PPC. La participation des représentants du CIRAD-EMVT, du Laboratoire Vétérinaire Central de Tamarinier et du LAVECEN à ce Séminaire International a été financée par l'Ambassade de France à Saint Domingue. Les participants impliqués dans cet échange inter-laboratoires ont fait part de leur intérêt pour le projet mais ont émis des réserves quant à la possibilité d'échanger du matériel à haut risque entre pays infectés. Il a donc été décidé que chaque responsable de diagnostic PPC procéderait à une enquête auprès

de son laboratoire et de son Ministère de tutelle afin d'étudier les possibilités et les modalités d'échange de matériel à haut risque, les conclusions de l'enquête devant être révélées lors la prochaine réunion des participants.

Cette réunion a eu lieu à Boca Chica en République Dominicaine du 1^{er} au 3 mars 2004, lors de la Réunion Technique Régionale PPC organisée par le Caribbean Agriculture and Fisheries Programme de l'Union Européenne (CAFP-UE). Elle a été l'occasion de présenter une revue détaillée de l'épidémiologie moléculaire et des différentes procédures de diagnostic en matière de PPC. Chaque laboratoire participant a ensuite présenté les techniques et le nombre d'analyses réalisées pour le diagnostic de la PPC.

Un groupe de travail composé :

- des Drs Jocelyn Quirico, Felix del Orbe, et Francia Casso pour le LAVECEN,
- du Dr Max Millien pour le Laboratoire Vétérinaire Central de Tamarinier,
- des Drs María Teresa Frías-Lepoureau et Maria Irian Percedo Abreu pour le CENSA,
- des Drs Dominique Martinez, Thierry Lefrançois et Sophie Molia du CIRAD-EMVT Guadeloupe,
- de deux experts de la PPC, les Drs Emmanuel Albina du CIRAD-EMVT Montpellier et Luis Jose Romero Gonzales de la Sous-Direction Générale de la Santé Animale du Ministère de l'Agriculture espagnol,

a été constitué pour discuter de la mise en œuvre de l'essai inter-laboratoires. Les conclusions de l'enquête ont confirmé les réserves émises lors du SISA à Cuba en ce qui concerne l'échange de matériel à haut risque entre pays infectés. Le principe d'un échange de prélèvements a donc été approuvé mais uniquement entre laboratoire de référence international et laboratoires des Grandes Antilles, et non pas entre laboratoires des Grandes Antilles. Il a aussi été décidé que les Dr. Albina et Romero Gonzales entreraient en contact avec le laboratoire européen de référence pour la PPC, à Hanovre, afin d'étudier les possibilités de mise en place d'un essai inter-laboratoires, tandis que les responsables de laboratoire solliciteraient, auprès de leurs directeurs respectifs, l'autorisation d'importer du matériel infectieux en provenance du laboratoire d'Hanovre.

La réunion de Boca Chica s'est terminée par une visite des installations du LAVECEN à Saint Domingue, et notamment du laboratoire de virologie où sont analysés tous les prélèvements en matière de PPC.

Au mois d'avril, l'Institut de Virologie de l'Ecole Vétérinaire d'Hanovre, qui constitue le laboratoire européen de référence pour la PPC, a donné son accord pour envoyer un panel de sérums, contenant anticorps et antigènes de la PPC, à chaque laboratoire participant. Les responsables du diagnostic PPC des trois laboratoires impliqués ont alors sollicité une lettre officielle rédigée par le CIRAD-EMVT afin d'appuyer leur demande de permis d'importation de matériel infectieux auprès de leurs directeurs respectifs. L'envoi de cette lettre a été retardé au mois de juin en raison des événements dramatiques liés aux intempéries survenus au mois de mai en Hispaniola.

L'obtention des permis d'importation de matériel infectieux s'est avérée un processus long et difficile, notamment pour la République Dominicaine où le changement de gouvernement à l'occasion des élections présidentielles de 2004 a entraîné une redistribution des postes au sein du SEA (Secretaria de Estado de Agricultura). Il a été décidé d'attendre que les permis d'importation des trois pays soient obtenus avant que le laboratoire européen de référence pour la PPC n'envoie les échantillons-tests, et ce afin que les analyses soient faites dans les mêmes conditions (même envoi, même délai de réalisation, etc) pour les trois laboratoires

participants. Tous les permis ont finalement été obtenus en mars 2005 et l'envoi des panels d'échantillons-test a été fait par le laboratoire d'Hanovre à la fin du même mois, par transporteur spécialisé dans le matériel biologique. Les coûts de préparation et d'envoi des échantillons-tests ont été remboursés au laboratoire européen de référence pour la PPC.

Les analyses ont été effectuées par les trois laboratoires participants durant le mois d'avril, en utilisant leurs techniques de diagnostic habituelles et sans concertation entre laboratoires. Les résultats des analyses ont été envoyés début mai au laboratoire européen de référence à Hanovre pour comparaison avec les résultats attendus. Le coût des analyses a été remboursé à chaque laboratoire.

Un atelier technique de restitution des résultats, réunissant tous les participants de l'essai inter-laboratoire, a été organisé le 30 mai au CENSA de la Havane à Cuba afin de : 1) faire un état des lieux des connaissances en matière de diagnostic de la PPC, 2) présenter les résultats obtenus par chaque pays pour l'analyse du panel envoyé par le laboratoire européen de référence, et 3) proposer si besoin est, des améliorations aux techniques employées actuellement. La liste des participants, le programme et la galerie de photos de cet atelier sont fournies en Annexes 1, 2, et 3. Dans un souci de synchronisation des événements régionaux ayant trait à la production porcine et à la PPC, cet atelier a été organisé la veille du VII Congreso de Porcicultura, durant lequel avait lieu la réunion du Plan Continental d'Eradication de la PPC dans les Amériques organisée par la FAO, l'OIE, et l'OIRSA.

Les frais de participation à l'atelier de trois représentants de chaque pays participant à l'essai (Cuba, Haïti, et la République Dominicaine), ainsi que de trois experts PPC de renommée internationale (le Pr Moennig et le Dr Greiser-Wilke du laboratoire européen de référence à Hanovre, et le Dr Albina du CIRAD-EMVT Montpellier) et de deux organisateurs du CIRAD-EMVT Guadeloupe ont pu être pris en charge par le FCR et le Fonds de Solidarité Prioritaire mobilisateur « Appui à la régionalisation et à l'harmonisation des réseaux d'épidémiosurveillance des maladies animales » du Ministère des Affaires Etrangères.

Résultats et conclusions de l'essai

Description du panel

Le panel d'échantillons-test envoyés par le laboratoire européen de référence pour la PPC contenait les sérums suivants:

- Sérum A: ne contenant pas le PPCV (virus de la PPC) ni les anticorps contre le PPCV
- Sérum B: contenant le PPCV et faible taux d'anticorps contre le PPCV
- Sérum C: ne contenant pas le PPCV et taux d'anticorps moyen contre le PPCV
- Sérum D: ne contenant pas le PPCV et positif pour les anticorps contre le PPCV et contre le virus de la maladie des frontières
- Sérum E: ne contenant pas le PPCV et faible taux d'anticorps contre le PPCV
- Sérum F: contenant le PPCV mais pas les anticorps contre le PPCV

Techniques utilisées

Pays	Détection du virus ou des antigènes	Détection des anticorps
Cuba	Isolement sur cellules SK6 RT-PCR	NPLA

Haïti	ELISA (Ceditest)	ELISA (Ceditest + IDEXX)
République Dominicaine	Isolement sur cellules PK15 ELISA (IDEXX)	PLA sur cultures cellulaires infectées sur microplaques (obtenues du laboratoire d'Ames, Iowa)

La République Dominicaine a aussi testé les sérums pour le virus de la maladie des frontières par ELISA antigène et anticorps et par culture cellulaire.

Cuba a aussi testé les sérums par isolement du virus sur cellules MDBK.

Résultats

Détection du virus ou des antigènes

Pays	Sérum A	Sérum B	Sérum C	Sérum D	Sérum E	Sérum F
Cuba	négatif	négatif ^{a,c}	négatif	négatif	négatif	positif
Haïti	négatif	négatif ^a	négatif	négatif	négatif	positif
République Dominicaine	négatif	négatif ^a	négatif	négatif	négatif	négatif ^b
Hanovre	négatif	positif	négatif	négatif	négatif	positif

Résultats discordants par rapport au laboratoire européen de référence d'Hanovre indiqués en jaune

^a Le sérum B avait un titre en virus très faible et il est possible que le virus ait été dégradé durant le transport

^b le résultat de l'isolement était non conclusif et il aurait fallu séquencer ou typer avec des anticorps monoclonaux pour conclure entre virus de la PPC ou de la maladie des muqueuses

^c Cuba avait trouvé ce sérum positif en RT-PCR mais après le délai imparti pour la réalisation des analyses

Détection des anticorps

Pays	Sérum A	Sérum B	Sérum C	Sérum D	Sérum E	Sérum F
Cuba	négatif	positif	positif	positif	positif	négatif
Haïti	négatif	négatif ^a	positif	positif	négatif ^a	négatif
République Dominicaine	négatif	non interprétable ^b	positif	positif	positif	négatif
Hanovre	négatif	positif	positif	positif	positif	négatif

Résultats discordants par rapport au laboratoire européen de référence d'Hanovre indiqués en jaune

^a Erreur d'interprétation pour un test et manqué de sensibilité pour l'autre

^b Un deuxième test (ELISA, neutralisation) devrait être utilisé

Conclusion

L'organisation du premier essai inter-laboratoire de vérification de la qualité du diagnostic de la PPC a été un succès et les résultats obtenus par les laboratoires participants sont jugés globalement satisfaisants.

La visite du laboratoire de virologie du CENSA durant l'atelier a permis de constater qu'un système d'assurance qualité basé sur la norme internationale ISO 17025 est déjà en place, avec deux personnes travaillant à temps complet sur le développement des procédures de qualité au CENSA. Le CENSA souhaiterait par ailleurs bénéficier d'une évaluation externe de son système d'assurance qualité. En République Dominicaine et en Haïti, un système d'assurance qualité est actuellement en cours de développement par le biais de la rédaction de procédures écrites. Une assistance technique et financière est souhaitée pour accélérer et compléter ce processus.

Recommandations et perspectives

Recommandations générales

Les protocoles de diagnostic doivent être harmonisés selon les manuels de diagnostic standard de l'OIE et/ou l'UE. Il serait de plus utile que les trois laboratoires réalisent les mêmes techniques de base en conformité avec les manuels de diagnostic standard de l'OIE et/ou l'UE. Comme première approche, un laboratoire pourrait offrir de préparer un sérum positif en anticorps afin de le distribuer aux autres laboratoires comme témoin positif spécifique de la région. Pour cela, une large quantité de sérum devrait être obtenue à partir de cochons infectés par le virus de la PPC. Seuls les sérums de cochons ne contenant pas le virus PPC mais contenant des anticorps devraient être aliquotés. Un aliquot serait ensuite envoyé au laboratoire européen de référence pour déterminer son titre. Ce sérum constituerait ensuite le témoin de chaque laboratoire des Grandes Antilles pour les analyses de détection des anticorps.

Un système d'assurance qualité devrait être mis en place et/ou maintenu dans chaque laboratoire. Il est aussi nécessaire qu'un nombre minimum d'analyses soient réalisées chaque année pour maintenir les capacités techniques de diagnostic des laboratoires. En Europe, il est généralement recommandé d'effectuer au minimum 800 analyses par an.

Un essai inter-laboratoire similaire doit être reconduit chaque année afin de vérifier et d'améliorer la qualité du diagnostic, mais aussi de maintenir la confiance dans les résultats de surveillance annoncés par les pays infectés par la PPC dans les Grandes Antilles. Le prochain essai pourrait de nouveau être organisé par le biais de CaribVET, en collaboration avec le CIRAD-EMVT et le laboratoire européen de référence à Hanovre. Les échantillons-tests pourraient être envoyés à l'occasion de l'essai inter-laboratoire européen annuel. Les éventuels ateliers de restitution des résultats devraient alors être organisés dans les autres pays des Grandes Antilles afin que les installations, équipements et techniques propres à chaque pays participant puisse tour à tour être évaluées.

Enfin il faut renforcer les collaborations entre les laboratoires par le biais de formation, échange d'expertise, transfert de techniques, et adopter les procédures recommandées par l'OIE et l'UE pour la manipulation et l'envoi d'échantillons.

Recommandations spécifiques à chaque pays

- Haïti

Il serait utile de mettre en place les techniques de référence de la PPC. Le laboratoire vétérinaire central de Tamarinier est déjà capable de réaliser le test d'immunofluorescence directe mais ce dernier ne peut être évalué lors d'un essai inter-laboratoire basé sur l'envoi de sérum. Il faudrait donc mettre en place l'isolement de virus sur culture cellulaire. Cela pourrait être fait en coopération avec le CENSA puisque celui-ci dispose de la technique et des réactifs, ou avec l'aide du LAVECEN.

- Cuba

Les représentants de Cuba ont expliqué qu'ils présentaient un fort intérêt à devenir laboratoire de référence pour la PPC dans la Caraïbe, mais que leurs autorités de tutelle craignaient l'introduction de nouveaux virus dans le pays en l'absence de laboratoire de biosécurité de niveau 3 pour recevoir les échantillons envoyés par les autres pays. Il faut donc faire un travail de communication pour montrer que l'envoi d'échantillons selon les procédures standard au niveau international, pose un risque très faible de dissémination du virus.

- République Dominicaine

Il est recommandé d'effectuer un test de neutralisation virale pour tous les échantillons pour lesquels le test PLA ne donne pas de résultat interprétable. Ce test pourrait être développé en collaboration avec le CENSA qui dispose de la technique et des réactifs. Le LAVECEN a lui aussi manifesté un intérêt à devenir laboratoire de référence régional pour la PPC. Son système d'assurance qualité est cependant moins avancé que celui du CENSA à Cuba.

Perspectives

Tous les participants sont d'accord pour continuer à améliorer la qualité du diagnostic. Certaines améliorations peuvent être faites directement par les laboratoires au moyen de leurs ressources propres et d'échanges entre les trois pays, mais d'autres (renforcement de l'assurance qualité, développement de nouvelles techniques) seront mises en route plus efficacement au niveau régional avec un appui extérieur, à la fois financier et technique. Les trois pays souhaiteraient ainsi soumettre un projet régional sur la PPC afin d'obtenir les fonds suffisants pour établir un diagnostic de haute qualité, qui soit reconnu à la fois régionalement et au niveau international.

Dans la même perspective, il a été débattu de la possibilité de créer un laboratoire régional de référence pour la PPC. Les avantages d'un tel laboratoire pour la Caraïbe seraient les suivants :

- Possibilité de formation (aux techniques de diagnostic, à l'assurance qualité), d'accès aux réactifs (virus, sérums, etc) au niveau régional
- Possibilité d'établir un diagnostic de confirmation rapide en cas de suspicion de foyer de PPC, notamment dans les pays caribéens indemnes de PPC qui pour l'instant doivent envoyer leurs échantillons aux Etats-Unis ou en Europe
- Présence dans la Caraïbe d'un laboratoire accrédité par la communauté scientifique internationale

- Durabilité des essais annuels inter-laboratoire en s'affranchissant du besoin d'obtenir un appui financier des bailleurs de fonds
- Reconnaissance de l'expertise régionale au niveau international et possibilité de participer à la réunion annuelle à Bruxelles des laboratoires européens de diagnostic de la PPC.

Les responsabilités incombant à un tel laboratoire seraient les suivantes:

- Assurance qualité interne et externe, et assistance aux autres laboratoires pour la mise en place des procédures qualité
- Stockage et distribution de cellules, virus et sérums de référence (à minima mise à disposition d'un sérum positif)
- Coordination des méthodes de diagnostic
- Formation initiale et continue sur tous les aspects du diagnostic de la PPC avec pour objectif d'harmoniser les techniques diagnostiques
- Test de confirmation (par exemple en cas de nouveau foyer)

Et éventuellement

- Organisation d'ateliers
- Mise à disposition de personnel en cas de situation d'urgence dans les pays de la région
- Recherche sur les caractéristiques de la PPC dans la région, notamment par la mise en place d'expérimentation sur les animaux

La création d'un laboratoire caribéen de référence pour la PPC semble actuellement un peu prématurée du fait des ressources humaines et financières limitées dans la région. Cette création ne pourra en outre être décidée uniquement au niveau des trois pays infectés car le processus doit être validé par une expertise externe.

Surtout, la mise en place -ou pas- d'un laboratoire de référence pour la PPC ne doit pas empêcher la réalisation annuelle d'un essai inter-laboratoire impliquant Cuba, Haïti et la République Dominicaine. Cet essai annuel reste en effet le meilleur moyen de maintenir la confiance dans les données sanitaires relatives à la PPC au sein des trois pays actuellement infectés dans les Antilles.

Liste des participants

Atelier de restitution de l'essai inter-laboratoire PPC dans les Grandes Antilles CENSA, La Havane, Cuba, 30 mai 2005

Dr. Emmanuel ALBINA

CIRAD – Département EMVT
Campus International de Baillarguet
TA30/G
34398 Montpellier Cedex 5
FRANCE
Tel: (33) 467 593 705
Fax: (33) 467 593 798
Email: emmanuel.albina@cirad.fr

Dr. Maritza BARRERA VALLE

CENSA
Carretera Tapaste y Autopista Nacional
Apdo. 10, San Jose de las Lajas
CP 32700, La Habana
CUBA
Tel: (53) 64 86 3014 ext. 33
Fax: (53) 64 86 1104
Email: maritza@censa.edu.cu

Dr. Felix DEL ORBE

LAVECEN
Av. Monumental Los Girasoles
Santo Domingo
DOMINICAN REPUBLIC
Tel: (809) 560 7700 ext.248
Fax: (809) 560 04 69
Email: lab.veterinario@codetel.net.do

Dr. Maria Teresa FRIAS LEPOUREAU

CENSA
Carretera Tapaste y Autopista Nacional
Apdo. 10, San Jose de las Lajas
CP 32700, La Habana
CUBA
Tel: (53) 6486 3014 ext.33
Fax: (53) 648 61104/ (+53) 646 3897
Email: mariat.frias@infomed.sld.cu

Pr. Irene GREISER-WILKE

Institute of Virology
Department of Infectious Diseases
School of Veterinary Medicine
Buenteweg 17
D-30559 Hannover
GERMANY
Phone: (49) 511 953 8847
Fax: (49) 511 953 8898
Email: irene.greiser-wilke@tiho-hannover.de

Dr. Marie Gabrielle LAFORTUNE

Laboratoire de diagnostic vétérinaire de Tamarinier
Route nationale #1, Km 15
Bon Repos
HAITI
Tel: (509) 405 2506
Fax: (509) 298 3014
Email: lafortunemaga@yahoo.fr

Dr. Thierry LEFRANCOIS

CIRAD – Département EMVT
Domaine de Duclos, Prise d'Eau
97170 Petit-Bourg
GUADELOUPE
Tel: (590) 590 255 947
Fax: (590) 590 940 396
Email: thierry.lefrancois@cirad.fr

Dr. Alain LOUIS

Laboratoire de diagnostic vétérinaire de Tamarinier
Route nationale #1, Km 15
Bon Repos
HAITI
Tel: (509) 513 5733
Fax: (509) 298 3014
Email: michelalainlouis@yahoo.com

Dr. Max MILLIEN

MARNDR
Impasse cala #8
Delmas 33
Port-au-Prince
HAITI
Tel : (509) 513 5733
Fax : (509) 298 3014
Email: millienmax@yahoo.fr

Pr. Volker MOENNIG

Institute of Virology
Department of Infectious Diseases
School of Veterinary Medicine
Buenteweg 17
D-30559 Hannover
GERMANY
Phone: (49) 511 953 8840
Fax: (49) 511 953 8898
Email: volker.moennig@tiho-hannover.de

Dr. Sophie MOLIA

CIRAD – Département EMVT
Domaine de Duclos, Prise d'Eau
97170 Petit-Bourg
GUADELOUPE
Tel: (590) 590 255 442
Fax: (590) 590 940 396
Email: sophie.molia@cirad.fr

Dr. Maria Irian PERCEDO ABREU

CENSA
Carretera Tapaste y Autopista Nacional
Apdo. 10, San Jose de las Lajas
CP 32700, La Habana
CUBA
Tel: (53) 646 3206
Fax: (53) 649 8104
Email: percedo@censa.edu.cu

Dr. Jocelyn QUIRICO

LAVECEN
Av. Monumental Los Girasoles
Santo Domingo
DOMINICAN REPUBLIC
Tel: (809) 564 7700 exts. 247-245
Fax: (809) 560 0469
Email: jolyquirico@hotmail.com

Dr. Angelo VENTURA

Secretaria de Estado de Agricultura
Direccion General de Ganaderia
Laboratorio Veterinario Central
Av. Monumental Los Girasoles,
Santo Domingo
DOMINICAN REPUBLIC
Tel: (809) 561 7301
Fax: (809) 561 7431
Email:

digegariesgos@gmail.com

Programme

Atelier de restitution de l'essai inter-laboratoire PPC dans les Grandes Antilles CENSA, La Havane, Cuba, 30 mai 2005

8:00	Départ de l'hôtel Comodoro et transport au CENSA	
9:30 - 10:00	Introduction et objectifs	TL + SM
10:00 - 10:15	Principes d'un essai inter-laboratoire	EA
10:15 - 10:45	Connaissances actuelles sur le diagnostic de la PPC	IGW + VM
10:45 - 11:00	Pause	
11:00 - 12:45	Restitution des résultats: <ul style="list-style-type: none">- Description des échantillons- Techniques et résultats de Cuba- Techniques et résultats d'Haïti- Techniques et résultats de la Rép. Dominicaine- Conclusion	IGW + VM MFL AL + ML FDO + JQ IGW + VM + EA
12:45 - 2:00	Déjeuner au CENSA	
2:00 - 3:00	Visite du laboratoire de virologie du CENSA	
3:00 - 4:00	Session de travail sur les protocoles	
4:00 - 5:00	Discussion et perspectives	
5:00	Transport au Palacio de las Convenciones	
7:00	Cocktail de Bienvenue du VII Congreso de Porcicultura	

AL	Alain Louis
EA	Emmanuel Albina
FDO	Felix Del Orbe
IGW	Irene Greiser-Wilke
JQ	Jocelyn Quirico
MFL	Maria Teresa Frias Lepoureau
ML	Marie Gabrielle Lafortune
SM	Sophie Molia
TL	Thierry Lefrançois
VM	Volver Moennig

Galerie de photos
Atelier de restitution de l'essai inter-laboratoire PPC dans les Grandes Antilles
CENSA, La Havane, Cuba, 30 mai 2005



Participants à l'atelier de restitution des résultats



Discours d'introduction par le Dr Tablada Romero, directrice du CENSA



Présentation des résultats d'Haïti par le Dr Lafortune



Présentation des résultats de Cuba par le Dr Frias Lepoureau



Présentation des résultats de la République Dominicaine par le Dr Del Orbe



Visite du laboratoire de virologie du CENSA



Visite du laboratoire de virologie du CENSA

CSF inter-laboratory assay

Results restitution workshop

Objectives

To verify the quality of CSF diagnostic in the laboratories of the 3 infected islands of the Caribbean
The objectives of an inter-laboratory assay on CSF diagnostics in the Caribbean were 1/to verify the quality of CSF diagnostics in the laboratories of the 3 affected islands of the Caribbean, 2/ to increase communication between the laboratories, 3/ to pave the way towards a routine assurance quality procedure and an eventual reference laboratory for the Caribbean

This project was funded by Fonds de Coopération Régionale (FCR) Guadeloupe and organized by CIRAD, EMVT department in Guadeloupe.

Timeline

Sept 2003: launch of the project during the SISA

2004: feasibility of sample exchanges for CSF diagnostic between Haiti, Dominican Republic and Cuba or between these countries and an international reference laboratory

July 2004-February 2005: obtaining authorisations to import test samples

March-April 2005: preparation and shipment of test samples to Haiti, Dominican Republic and Cuba by the European reference laboratory.

May 30th 2005, La Habana: result restitution workshop CSF inter-laboratory assay

Description

During this workshop, the principles of inter-laboratory assays, the state of the arts of CSF diagnostics and the results of the inter-laboratory assay were presented.

Description of the panel

It was decided that a reference panel would be sent to the 3 Caribbean islands by the European reference laboratory.

The following sera were tested:

Serum A: CSFV and antibody negative

Serum B: CSFV positive (VI, Ag-ELISA and PCR), low antibody titre against CSFV

Serum C: medium antibody titre against CSFV

Serum D: antibody positive serum, cross reacting antibodies against BDV Moredun

Serum E: low antibody titre against CSFV

Serum F: CSFV positive serum

Techniques used

Country	Virus/antigen detection	Antibody detection
Cuba	virus isolation (SK6) RT-PCR	NPLA
Haiti	ELISA (Ceditest)	ELISA (Ceditest + IDEXX)
Dominican Republic	virus isolation (PK15) ELISA (IDEXX)	Normal PLA

The Dominican Republic also tested the sera for BVD by antigen and antibody ELISA and by cell culture.

Cuba also tested the sera by virus isolation in MDBK cells.

Results

Virus /antigen detection

Country	Serum A	Serum B	Serum C	Serum D	Serum E	Serum F
Cuba	negative	negative ^{a,c}	negative	negative	negative	positive
Haiti	negative	negative ^a	negative	negative	negative	positive
DR	negative	negative ^a	negative	negative	negative	negative ^b
Hannover	negative	positive	negative	negative	negative	positive

Discordant results in yellow colour.

^a Serum B had a low virus titre and it is very likely that the virus was degraded during the transport.

^b Sensitivity default, virus has to be sequenced (BVD contamination)

^c Cuba found a positive result by RT-PCR for the original sample of Serum B

Antibody detection

Country	Serum A	Serum B	Serum C	Serum D	Serum E	Serum F
Cuba	negative	positive	positive	positive	positive	negative
Haiti	negative	negative ^a	positive	positive	negative ^a	negative
DR	negative	not interpretable ^b	positive	positive	positive	negative
Hannover	negative	positive	positive	positive	positive	negative

Discordant results in yellow colour.

^a Interpretation errors and default of sensitivity for one of the tests used

^b A secondary test (ELISA, neutralisation) should be used for confirmation

Conclusions and discussions

Results of the assay

The first Caribbean inter-laboratory assay for CSF diagnostic was successful and overall the results were satisfactory.

The assay needs to be conducted every year to maintain and improve the quality of diagnosis, which is a cornerstone of an efficient surveillance system.

Trust between the laboratories with regards to CSF diagnostic results is essential and the continuation of such inter-laboratory proficiency assays is the key to maintain it.

The OIE diagnostic manual should be adopted by the Caribbean laboratories

Quality assurance

The laboratory of virology at CENSA was visited during the workshop. A quality assurance system based on the ISO 17025 international standard is already in place and there are two persons working full time on the development of quality procedures at CENSA. CENSA wishes to have an external evaluation of its system.

In the Dominican Republic and Haiti, the quality assurance system is gradually being put in place through the development of written procedures. Technical assistance and financial help would be needed to accelerate the process.

Recommendations

General recommendations

1) Harmonisation of diagnostic methods

The protocols have to be harmonized according to the OIE and/or EU diagnostic manuals

It was considered that it would be helpful if the three laboratories performed the same basic techniques in compliance with the OIE and/or EU diagnostic manuals.

2) Improvement of quality

Quality assurance systems should be implemented and/or maintained.

It is also considered necessary to perform a minimum of 800 samples per year to maintain diagnostic skills in the laboratories.

3) Performance of an inter-laboratory assay on a yearly basis

The next inter-laboratory assay could be again organised by CIRAD through CaribVET with the collaboration of the Virology Institute of the Veterinary School of Hannover. The samples could be sent together with the annual inter-laboratory comparison test of the European community reference laboratory.

4) Strengthen the collaboration between the laboratories (training, expertise exchange, skill transfer, etc...).

5) Adopt the procedure on how to properly handle and ship samples from the OIE/EU manual.

Specific recommendations by country

Haiti

It would be useful to implement the traditional standard techniques. Haiti is already able to perform direct immunofluorescence test but this test cannot be evaluated within an inter-laboratory proficiency test based on the use of serum samples. Nevertheless, an alternative test consisting in virus isolation on cell culture should be implemented in this laboratory. The test should be developed in close cooperation with CENSA since it already has skills and controlled reagents.

Cuba

Cuba pointed out the problem of not having a biosecurity level 3 laboratories to receive samples from other countries or of unknown origin. This should not prevent from exchanging samples since properly handled samples pose no risk as there are few chances that a virus strain will escape from a laboratory and infect pig populations. Although the veterinary authorities support the idea of a reference laboratory for CSF in Cuba, they fear the introduction of viruses into the country. Therefore they have to be convinced that under standard legal condition this will not happen.

Dominican Republic

It is recommended that besides performing the PLA test, a virus neutralisation test should be included for all samples that give non interpretable results.

Perspectives

Regional CSF diagnostic project

There is a common will to improve the quality of CSF diagnostic. Some improvements can be done by the laboratories based on their capacities and available resources, but others (quality assurance, new techniques) would be achieved more efficiently through a regional approach and collaboration and will require external expertise and financial support.

The three countries wish to submit a regional CSF project to obtain funding and enable them to reach a high level of diagnostic quality and trust among themselves and the international community.

Regional CSF reference laboratory

In the same prospect, the usefulness of creating a regional reference laboratory for the Caribbean has been debated.

The advantage of having such a regional reference laboratory would be:

- Availability of training (diagnostic techniques, quality assurance) and reagents (virus, sera, etc) at a regional scale
- Availability of a quick diagnostic confirmation in case of primary or suspected foci in Caribbean CSF free countries
- Availability of an accreditation laboratory at the national level
- Sustainability of the inter-laboratory proficiency tests, the funding of which will not always be provided by the international community
- Recognition of regional expertise at the international level with the possibility to be offered technical assistance and participate to the annual meeting of the CSF reference laboratories in Brussels

However, the creation of a Caribbean reference centre requires investment in both financial and human resources, which is not currently available at the regional level.

The following duties of a possible Caribbean reference laboratory have been identified.

Essential

- Quality assurance
- Storage and distribution of cells, reference viruses and sera (at least one positive serum)
- Coordination of diagnostic methods
- Training and retraining of experts in all fields of CSF laboratory diagnosis with a view to harmonize diagnostic techniques
- Confirmatory testing (e.g. of primary outbreaks)
- Assistance to implement quality assurance in other CSF laboratories

Optional

- Organisation of workshops
- Provision of trained personnel for emergency situations occurring within the region
- Animal testing
- Production, validation and distribution of standard sera

The creation of a Caribbean reference laboratory cannot be decided by the three infected countries only. The process has to be validated by an external expertise. The creation of a Caribbean reference laboratory should not impede the maintenance of a yearly inter-laboratory proficiency test.